

„*ipsogen*® RT Kit“ naudojimo instrukcijos (produkto instrukcija)



24

2 versija

IVD

Skirta in vitro diagnostikai



REF

679823



„QIAGEN GmbH“, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden VOKIETIJA

R2

MAT

1133762LT

Turinys

Numatytoji paskirtis _____	3
Aprašas _____	3
Rinkinio turinys _____	4
Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos _____	5
Eksploataciniai reikmenys _____	5
Reagentai _____	5
Įranga _____	5
Saugos informacija _____	6
Skubios pagalbos telefono numeris _____	6
Kokybės kontrolė _____	7
Gabenimo ir laikymo sąlygos _____	7
Bandinių laikymas ir naudojimas _____	7
Protokolas. Atvirkštinė transkripcija _____	8
Simboliai _____	11
Užsakymo informacija _____	13
Dokumento peržiūros istorija _____	14

Numatytoji paskirtis

Skirta *in vitro* diagnostikai.

Rinkinyje „*ipsogen*® RT Kit“ yra visi reagentai (išskyrus matricą), reikalingi norint atlikti atvirkštinės transkripcijos reakciją RNR, išskirtoje iš žmogaus mėginių. „*ipsogen* RT Kit“ skirtas naudoti kartu su QIAGEN *in vitro* diagnostikos prietaisais, kurių aprašuose „*ipsogen* RT Kit“ nurodytas kaip papildomas rinkinys.

„*ipsogen* RT Kit“ nėra automatinis prietaisas.

„*ipsogen* RT Kit“ skirtas naudoti tik specialistams, specialiai instrukuotiems ir išmokytiems naudoti molekulinės biologijos metodus ir susipažinusiems su priemonės technologija. Priemonės procedūra turi būti vykdoma molekulinės biologijos laboratorijos aplinkoje.

„*ipsogen* RT Kit“ skirtas *in vitro* diagnostikai.

Aprašas

Naudojant „*ipsogen* RT Kit“ galima atlikti bendros RNR atvirkštinę transkripciją, naudojamą molekulinuose diagnostiniuose testuose: nuo RNR priklausomos DNR polimerazės veikla (atvirkštinė transkripcija) transkribuoja cDNR iš RNR matricos.

Rinkinio turinys

Turinys	Tūris (µl)
Atvirkštinė transkriptazė	36
5x „RT Buffer for reverse transcription“ (RT buferinis tirpalas, skirtas atvirkštinei transkripcijai)	180
dNTP Mix (dNTP mišinys)*	72
„Random Primer“ (atsitiktinis pradmuo) †	190
„RNase Inhibitor“ (ribonukleazės inhibitorius)	18
DTT ‡	45

* Deoksinukleotidai, kiekvienas po 10 mM

† Atsitiktinis nonamerinis oligonukleotidas

‡ Ditiotreitolis, 0,1 M

Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos

Eksploataciniai reikmenys

- PGR klasės vanduo be nukleazės
- 0,5 ml arba 0,2 ml mėgintuvėliai be nukleazės

Reagentai

- PGR klasės vanduo be nukleazės

Pastaba. Peržiūrėkite QIAGEN produktų, kurių aprašuose „*ipsogen* RT Kit“ nurodytas kaip papildomas rinkinys, vadovą, kad sužinotumėte, ar reikia naudoti konkretaus tipo vandenį.

Įranga

- Reguliuojamo tūrio pipetės*, skirtos RT-PGR (1–10 µl; 10–100 µl; 20–200 µl; 100–1000 µl)

Pastaba. Rekomenduojami mažiausiai du pipetėčių rinkiniai: vienas skirtas RT reakcijos mišiniams paruošti ir paskirstyti, kitas – RNR naudoti.

- Stalinė centrifuga* su rotoriumi, skirta 0,2 ml / 0,5 ml reakcijų mėgintuvėliams (galinti pasiekti 8 000 x g arba 10 000 aps./min.)
- Spektrofotometras*
- Termocikleris*, įtrauktas į *in vitro* diagnostikos QIAGEN produkto naudojimo instrukcijos derinį, kuriam „*ipsogen* RT Kit“ yra įtrauktas kaip priedų rinkinys

*Prieš naudodami įsitikinkite, kad visi instrumentai patikrinti ir sukalibruoti pagal gamintojo rekomendacijas.

- Kaitinimo blokas
- Ledas arba mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaisas

Saugos informacija

Dirbdami su cheminėmis medžiagomis, visada dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, mūvėkite vienkartinės pirštines ir būkite užsidėję apsauginius akinius. Daugiau informacijos rasite atitinkamuose saugos duomenų lapuose (Safety Data Sheets, SDS). Jie pateikiami patogiu ir kompaktišku PDF formatu internete www.qiagen.com/safety – čia galite rasti, peržiūrėti ir atspausdinti kiekvieno QIAGEN rinkinio ir jų komponentų SDL.

Saugos informacijos, susijusios su kitomis skyriuje „Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos“ nurodytomis medžiagomis, rasite atitinkamuose reagentų SDL ir instrumentų naudotojo vadovuose.

Mėginių ir tyrimų atliekas išmeskite laikydamiesi vietinių saugos reikalavimų.

„ipsogen RT Kit“ komponentams taikomi toliau nurodyti pavojingumo ir atsargumo teiginiai.

DTT

Sudėtyje yra (R*, R*)-1,4-dimerkaptobutan-2,3-diolis. Įspėjimas! Nestipriai dirgina odą. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

Skubios pagalbos telefono numeris

CHEMTREC

Už JAV ir Kanados ribų +1 703-527-3887

Kokybės kontrolė

Pagal QIAGEN ISO sertifikuotą kokybės valdymo sistemą, kiekviena „*ipsogen* RT Kit“ partija tiriama pagal iš anksto nustatytas specifikacijas, kad būtų užtikrinta nuosekli produktų kokybė.

Gabenimo ir laikymo sąlygos

„*ipsogen* RT Kit“ gabenamas ant sauso ledo ir iškart po gavimo turi būti laikomas nuo -30 iki -15 °C temperatūroje, pastovios temperatūros šaldiklyje.

Laikant nurodytomis laikymo sąlygomis, „*ipsogen* RT Kit“ rinkinys išlieka stabilus iki galiojimo pabaigos datos, nurodytos ant dėžutės etiketės.

Atidarytus reagentus galima laikyti jų originalioje pakuotėje nuo -30 iki -15 °C temperatūroje iki nurodytos datos. Venkite pakartotinai atšildyti ir užšaldyti. Atlikite ne daugiau kaip 7 atšildymo ir užšaldymo ciklus.

Jei komponentai bus laikomi kitokiomis, nei ant etikečių nurodytomis sąlygomis, jie gali veikti netinkamai ir neigiamai paveikti tyrimo rezultatus.

Bandinių laikymas ir naudojimas

Jei reikia ilgą laiką saugoti, po išskyrimo išgryninta RNR gali būti laikoma nuo -30 iki -15 °C arba žemesnėje temperatūroje (nuo -90 iki -65 °C).

Protokolas. Atvirkštinė transkripcija

Svarbi informacija prieš pradėdant

- Įsitikinkite, kad naudojamų reagentų galiojimo laikas nepasibaigęs ir kad jie buvo gabenami ir laikomi pagal gamintojo rekomendacijas.
- RT neigiama kontrolinė medžiaga (RT-Neig) sukuriama atvirkštinės transkripcijos etape, naudojant PGR klasės vandenį be nukleazės.

Pastaba. Peržiūrėkite QIAGEN produktų, kurių aprašuose „*ipsogen* RT Kit“ nurodytas kaip papildomas rinkinys, vadovą, kad sužinotumėte, ar RT-Neig kontrolinei medžiagai reikia naudoti konkretaus tipo vandenį.

- Reikiama išėiga yra 1 µg RNR kiekviename mėginyje.

Ką reikia atlikti prieš pradėdant

- Nuvalykite atvirkštinės transkripcijos (RT) mišinio paruošimui skirtą darbatalį, kad išvengtumėte matricos ar nukleazės užteršimo.
- Atšildykite visus reikalingus komponentus, išskyrus atvirkštinę transkriptazę ir RNazės inhibitorių, kurie turi būti laikomi šaldiklyje, kai yra nenaudojami, ir padėkite ant ledo arba į mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaisą.

Pastaba. Nevykdyskite atšildymo etapo ilgiau nei 30 minučių, kad medžiaga nesuirtų.

- Sumaišykite švelniai apversdami mėgintuvėlius kelis kartus (ne sukurinėje maišyklėje) ir trumpai centrifuguokite, kad mėgintuvėlio apačioje susirinktų skystis.
- Lašindami vandenį be nukleazės pakoreguokite RNR mėginius, kad būtų 0,1 µg/µl.

Pastaba. Peržiūrėkite QIAGEN produktų, kurių aprašuose „*ipsogen* RT Kit“ nurodytas kaip papildomas rinkinys, vadovą, kad sužinotumėte, ar reikia naudoti konkretaus tipo vandenį RNR mėginių normalizavimui, taip pat RNR kiekybinio nustatymo, kvalifikacijos ir normalizavimo protokolams, kai taikoma.

Procedūra

1. Naudodami kaitinimo bloką, inkubuokite 1 µg kiekvieno tiriamo RNR mėginio (10 µl) 5 minutes 65 °C temperatūroje.
2. Atvėsinkite mėginį 4 °C temperatūroje kaitinimo bloke ir laikykite nuo 2 iki 8 °C temperatūroje arba ant ledo (ar mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaise).
3. Trumpai centrifuguokite, kad mėgintuvėlio apačioje susirinktų skystis. Laikykite ant ledo (arba mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaise).
4. Paruoškite atvirkštinės transkripcijos iš anksto paruošiamą mišinį ant ledo ar mikromėgintuvėlių vėsavimo prietaise ir laikykite ant ledo (arba mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaise). Žr. 1 lentelę.

1 lentelė. Atvirkštinės transkripcijos iš anksto paruošiamo mišinio paruošimas*

Iš anksto paruošto mišinio komponentas	Tūris vienam mėginiui (µl)	Galutinė koncentracija
5x atvirkštinės transkripcijos buferinis tirpalas	5,0	1 x
dNTP (kiekvienas po 10 mM)	2,0	0,8 mM
Atsitiktinis nonameras (100 µM)	5,25	21 µM
RNazės inhibitorius (40 V/µl)	0,5	0,8 V/µl
Atvirkštinė transkriptazė (200 V/µl)	1,0	8 V/µl
DTT	1,25	–
RT iš anksto paruošto mišinio tūris vienam mėginiui	15	

* Paruoškite iš anksto paruošiamą mišinį n +1 reakcijoms, kur n yra tiriamų RNR mėginių kiekis.

5. Atsargiai sumaišykite įtraukdami ir išleisdami pipete (ne sukurinėje maišyklėje), trumpai centrifuguokite ir į kiekvieną RNR mėginį ir vandens kontrolinę medžiagą (RT-Neig) įlašinkite 15 µl iš anksto paruošto mišinio. Laikykite ant ledo (arba mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaise).
6. Atsargiai sumaišykite įtraukdami ir išleisdami kiekvieno mėgintuvėlio turį pipete (ne sukurinėje maišyklėje) ir trumpai centrifuguokite.

7. Termocikleriu vykdykite atvirkštinės transkripcijos programą (žr. 2 lentelę).

2 lentelė. Atvirkštinė transkripcijos programa











Veiksmas	Laikas
1 atvirkštinė transkripcija	25 °C
2 atvirkštinė transkripcija	50 °C temperatūroje 60 min.
Inaktyvavimas	85 °C temperatūroje 5 min.
Aušinimas	4 °C temperatūroje 5 min.

8. Trumpai centrifuguokite, kad mėgintuvėlio apačioje susirinktų cDNR.

9. Laikykite nuo 2 iki 8 °C temperatūroje ar ant ledo (arba mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsinimo prietaise) ir pereikite prie qPCR.

Simboliai

Naudojimo instrukcijose arba ant pakuočių ir etiketėse pateikiami šie simboliai:

Simbolis	Simbolio apibrėžimas
	Sudėtyje yra pakankamas reagentų kiekis <N> reakcijoms atlikti
	Tinka naudoti iki
	Šis produktas atitinka reikalavimus, nurodytus Europos reglamente 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos prietaisų
	In vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Katalogo numeris
	Partijos numeris
	Medžiagos numeris (t. y. komponento ženklavimas etikete)
	Visuotinis prekės numeris
	Unikalus prietaiso identifikatorius
	Apima

Simbolis**Simbolio apibrėžimas**

Komponentas



Numeris

Rn

R yra naudojimo instrukcijų peržiūrėtas leidimas, n yra peržiūrėto leidimo numeris



Temperatūros apribojimai



Gamintojas

Skaitykite naudojimo instrukcijas, kurias galima atsisiųsti svetainėje resources.qiagen.com/679823

Dėmesio! Žiūrėkite lydimuosius dokumentus

Užsakymo informacija

Produktas	Turinys	Kat. Nr.
„ipsogen® RT Kit“	24 mėginiams: atvirkštinė transkriptazė, 5x RT buferinis tirpalas, dNTP mišinys, atsitiktinis pradmuo, ribonukleazės inhibitorius, DTT.	679823

Norėdami gauti naujausios licencijavimo informacijos ir konkrečių gaminių atsisakymų, žr. atitinkamą QIAGEN rinkinio naudojimo instrukciją. QIAGEN rinkinių naudojimo instrukcijos pateikiamos svetainėje www.qiagen.com arba galite jų paprašyti QIAGEN techninės pagalbos tarnybos ar vietinio platintojo.

Dokumento peržiūros istorija

Peržiūra	Aprašymas
R1, 2022 m. rugpjūtis	Pradinis išleidimas
R2, 2024 m. liepa	Skyriuje „Numatomas naudojimas“ pridėtas paaiškinimas, kad „ <i>ipsogen</i> RT Kit“ nėra automatinis prietaisas Atnaujintas saugos informacijos skyrius, kad būtų atnaujintas DTT įspėjimas ir įtraukta CHEMTREC skubios pagalbos informacija

Ribota „ipsogen® RT Kit“ licencijos sutartis

Naudodamas šį gaminį, pirkėjas arba naudotojas sutinka su toliau išvardytomis sąlygomis.

1. Produktą galima naudoti tik vadovaujantis protokolais, pateiktais su šiuo produktu, šiomis naudojimo instrukcijomis ir tik su tyrime esančiais komponentais. QIAGEN nesuteikia jokios intelektinės nuosavybės licencijos naudoti ar įtraukti pridėtus šio tyrimo komponentus su šiame tyrime nepateiktais komponentais, išskyrus aprašytus protokoluose, pateiktuose su šiuo gaminiu, šiose naudojimo instrukcijose ir papildomuose protokoluose, kurie pateikti www.qiagen.com. QIAGEN naudotojams pateikiami keli papildomi protokolai QIAGEN naudotojams. Šių protokolų QIAGEN kruopščiai nepatikrino ir neoptimizavo. QIAGEN neteikia garantijų, kad šie protokolai nepažeidžia trečiųjų šalių teisių.
2. Jei aiškiai nenurodyta licencijose, QIAGEN nesuteikia garantijos, kad šis komplektas ir (arba) jo naudojimas nepažeis trečiųjų šalių teisių.
3. Pagal suteiktą licenciją šį komplektą ir jo komponentus galima naudoti vieną kartą; pakartotinai naudoti, atnaujinti ar perparduoti negalima.
4. QIAGEN aiškiai atsisako bet kokių kitų išreikštų ar numanomų licencijų, išskyrus aiškiai nurodytas licencijas.
5. Komplekto pirkėjas ir naudotojas sutinka nesiimti ir neleisti niekam kitam imtis veiksmų, kurie galėtų paskatinti arba palengvinti anksčiau nurodytus draudžiamus veiksmus. QIAGEN gali priversti vykdyti šios ribotosios licencinės sutarties draudimus bet kuriame teisme ir turi atgauti visas tyrimo ir teismo išlaidas, įskaitant išlaidas advokatams, pateikusi ieškinį dėl šios ribotosios licencinės sutarties vykdymo arba su šiuo rinkiniu ir (arba) jo komponentais susijusių teisių į savo intelektinę nuosavybę.

Atnaujintas licencijos sąlygas žr. www.qiagen.com.

Prekių ženklai: „QIAGEN®“, „Sample to Insight®“, „ipsogen®“. Šiame dokumente vartojami registruotieji pavadinimai, prekių ženklai ir kt., net jeigu jie nėra specialiai pažymėti, vis tiek saugomi įstatymų.

2024-07 HB-2939-002 1133762 © QIAGEN, 2024. Visos teisės saugomos.

Užsakymas www.qiagen.com/shop | Techninė pagalba support.qiagen.com | Svetainė www.qiagen.com